

氏 名	福 井 喜 一
生 年 月 日	
本 籍	石川県
学 位 の 種 類	博士 (薬学)
学 位 記 番 号	博甲第141号
学位授与の日付	平成7年3月25日
学位授与の要件	課程博士 (学位規則第4条第1項)
学位授与の題目	1-Hydroxytryptophan 誘導体の反応研究 (Studies on the Reactivity of 1-Hydroxytryptophan Derivatives)
論文審査委員	(主査) 染 井 正 徳 (副査) 津 田 喜 典, 花 岡 美代次 板 谷 泰 助, 山 田 文 夫

学位論文要旨

Abstract Unprecedented nucleophilic substitution reactions on the indole nucleus were found to occur generally in the chemistry of 1-hydroxytryptophan derivatives. When 1-hydroxy group of 1-hydroxytryptophan derivatives was converted to the better leaving groups by treatment with 2,4-dinitrofluorobenzene, acetyl chloride, and benzoyl chloride, pyrrolo[2,3-*b*]indole compounds were produced through intramolecular nucleophilic attack by the *N*₆-nitrogen. Furthermore, *N*₆-acetyl-1-hydroxytryptophan methyl ester and *N*₆-acetyl-1-hydroxytryptamine underwent regiospecific substitution reaction at the 5-position with various nucleophiles under mild acidic conditions to give melatonin, *N*₆-acetylserotonin, and 5-halogenoindoles.

It was also established that *N*₆-acetyl-5-hydroxytryptophan methyl ester and *N*₆-acetylserotonin led to the corresponding indole-4,5-diones by the oxidation with iodosylbenzene or Fremy's salt. The reaction of *N*₆-acetyltryptophan-4,5-dione with 2,3-dimethylbutadiene generated Diels-Alder adduct, which was highly sensitive to air and oxidized during work-up to 1*H*benz[*g*]indole derivative. Similarly, *N*₆-acetyltryptamine-4,5-dione was reacted with cyclopentadiene, 1-acetoxybutadiene, 1-methoxy-1,3-cyclohexadiene, 1,3-pentadiene, and so on, to give the expected products.

In addition, treatment of tryptophan-4,5-dione derivatives with various nucleophiles, such as dimethyl malonate, ethyl cyanoacetate, and methyl acetoacetate, afforded 7-substituted indole-4,5-diones.

These results might suggest that tryptophan is metabolized to 1-hydroxytryptophan and it undergoes the above various reactions in the central nervous system, as expected by the "1-hydroxyindole hypothesis".

Tryptophan は我々人間にとって重要な必須アミノ酸の一つであり, 神経伝達物質である serotonin

や睡眠のコントロール物質である melatonin，および種々の indole alkaloid へ代謝，或いは生合成されることが知られている。また現在まで，精神機能の病態生理の多くがセロトニンニューロンの機能障害によって説明されており，その原因として serotonin の代謝異常が挙げられている。しかしながらこの tryptophan および serotonin の代謝機構やその神経疾患との関わりについては未だ解明されていない。これに対し染井は，indole 化合物群は生体内で酸化されて最初に 1-hydroxy 体になり，これらが求核置換反応によって各種 indole alkaloid や indole 系生体アミンに変換されるという「1-hydroxyindole 仮説」を提唱している¹⁾。本仮説では，tryptophan の代謝を始めとする各種 indole 化合物の代謝，生合成のみならず，神経疾患の発現機構までも含めて統一的に，しかも有機化学的な反応を用いて説明を試みることができる。

著者は本仮説を検証するべく，1-hydroxytryptophan 誘導体に焦点を絞る，1) indole の化学では前例のない求核置換反応が起こるか否か，2) serotonin 等の生体アミンや各種 indole alkaloid が生成するのか否か，さらに3) 上記反応で得られる serotonin 誘導体の酸化を試み，その生成物の反応性について検討することにより，中枢神経系における serotonin 等の生体アミンと，神経疾患との関連性を説明する有機化学的根拠を得るという3つの目的を持って本研究を行ない，以下に示す新規知見を得ることに成功した。

1. 分子内求核置換反応による pyrrolo[2,3-*b*]indole 骨格の構築

1-Hydroxytryptophan 誘導体 (1a, b, Figure 1) の1位 hydroxy 基を良い脱離基にすることにより求核置換反応が起こるのか検討した。まず 1a の1位 hydroxy 基を 2,4-dinitrophenyl 化したところ，1位置換基の indole 骨格3位への転移と引き続き起こる側鎖 N₆-窒素の2位への求核攻撃によって，pyrrolo[2,3-*b*]indole 体 (2) の生成が認められた。また 1b を Ac₂O 中，NaOAc 存在下に120℃で反応した場合には，閉環体 (3a, b) が生成し，3a を加水分解して得られた 3c のX線結晶構造解析によりその構造を確定した (Figure 2)。さらに indole 骨格3位に diketopiperazine 環を有する 1-benzoyloxy 体 (4) も，DMF 中還流することにより求核置換反応が進行し，2*H*-pyrazino[1',2' : 1,5]pyrrolo[2,3-*b*]indole 誘導体 (5) を生成した。本骨格を有する alkaloid が多数知られているので，これらの天然物合成に役立つ，重要な基礎知見を得ることができた。

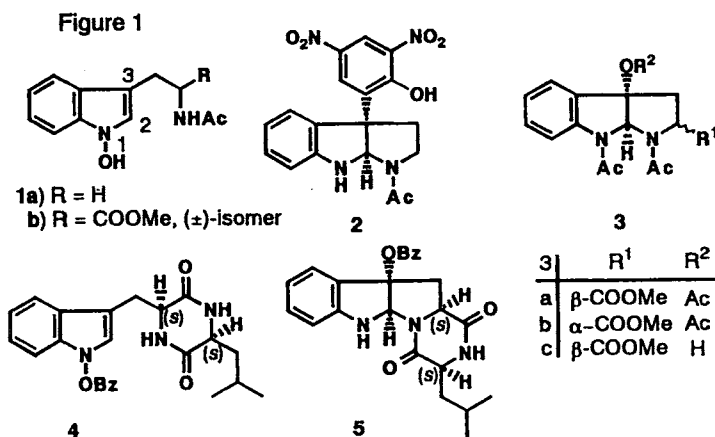


Figure 1

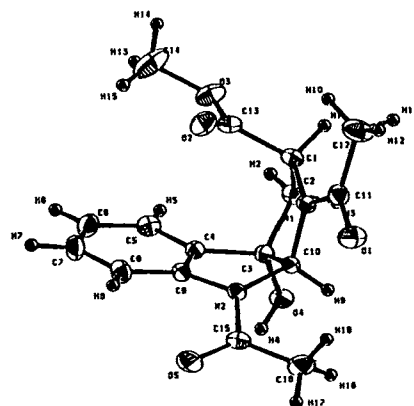


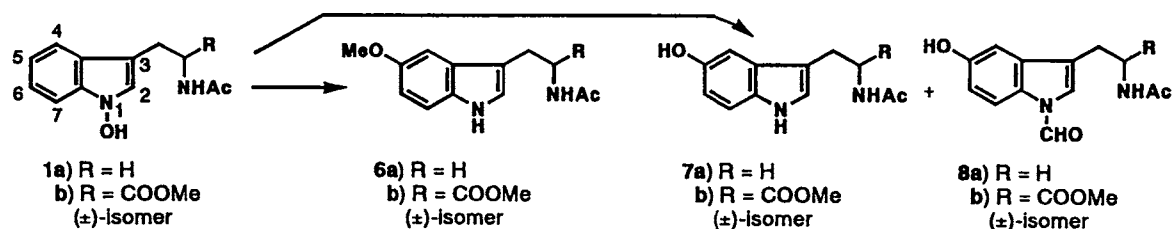
Figure 2

2. 酸触媒化の求核置換反応

1b を10% H₂SO₄-MeOH 中30分間還流したところ，5-methoxy 体 (6b) を位置特異的に生成することを見出した (Scheme 1)。同様に 1a を10% H₂SO₄-MeOH 中，室温下24時間反応した場合には，melatonin (6a) が生成した。一方，ハロゲン求核種として用いた反応は位置選択的であり，5位置換体が主生成体で得られる他に，HCl との反応の場合には7位置換体が生成し，HBr との反応ではさ

らに2位置換体も僅かながら生成することが判明した。また **1a**, **1b** と85% HCOOH との反応では, serotonin 誘導体 (**7a**, **b**) とその 1-formyl 体 (**8a**, **b**) がそれぞれ生成した。

シナプスベシクル等の, 生体内において酸性度の高い環境の中に serotonin が局在している理由は, 塩を形成して貯蔵されるためであると従来解釈されている。しかし上述の結果は, 1-hydroxytryptophan を経由して serotonin 分子自身を創り出すために酸が必要であるという [1-hydroxyindole 仮説] を支持する実験事実である。



Scheme 1

3. Tryptophan-4,5-dione 誘導体の合成と反応性

Tryptophan の代謝産物である serotonin 等の内因性 5-hydroxyindole 化合物群は, 酸化され易いことが知られているが, 反応の機構や生成物, およびその生成物の精神機能障害との関係については全く解明されていない。そこで容易に入手可能となった 5-hydroxytryptophan 誘導体 (**7a**, **b**) の酸化について検討した。その結果, **7b** を CAN や Fremy's 塩, salcomine- 酸素等の酸化剤と反応させるとタール化したが, iodosylbenzene との反応では, tryptophan-4,5-dione 体 (**9b**, Scheme 2) を39%で結晶として単離することができた。**7a** と iodosylbenzene との反応では, 38%の収率で **9a** が結晶として生成した。さらに条件検討の結果 MeOH-H₂O 中, 0℃で30分間, Fremy's 塩と反応させれば, 定量的に **9a** を得ることに成功した。

また tryptamine-4,5-dione は, serotonin が酸化されて生成する神経毒の一種であると推測されており, Cai らはこの点に注目し, N₆-ethoxycarbonylserotonin から tryptamine-4,5-dione 体を誘導し, cyclopentadiene との Diels-Alder 反応を行ない, dihydro 体の形で付加体が生成したと報告しているが, その物理データについて全く記載していない²⁾。そこで得られた tryptophan-4,5-dione 体 (**9a**, **b**) の反応性について検討するべく, 種々のジエンとの Diels-Alder 反応を試みた (Scheme 2)。

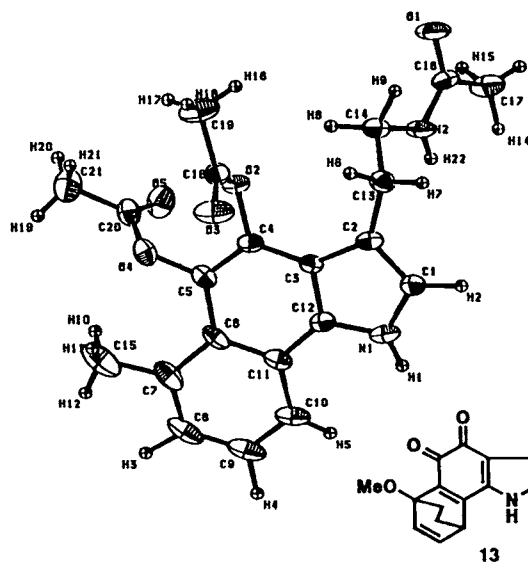
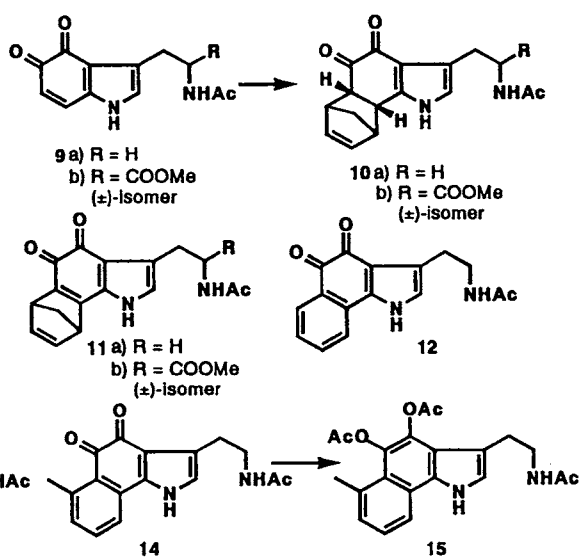


Figure 3



Scheme 2

その結果, cyclopentadiene との反応で最初に生成する付加体 (10a, b) は不安定で, 単離操作中にも酸化が進行し, 代わりに 4,5-dione 体 (11a, b) が生成することを見い出した。同様の傾向は 9a を 1-acetoxybutadiene, 1-methoxy-1,3-cyclohexadiene, 1,3-pentadiene と反応した場合にも見られ, 12, 13, 14 が生成した。なお 13, 14 の構造としては, それぞれ methoxy 基, および methyl 基の位置異性体の可能性もあるので, 14 を Zn-Ac₂O-Et₃N と反応して, 15 へ誘導し, その X 線結晶構造解析を行ない, Figure 3 に示す結果を得て, その構造を確定することができた。

一方 9a, 9b は各種求核試薬とも容易に反応し, 9b を methyl mercaptan と反応させると, 7-methylthio-4,5-dione 体 (16) が生成した。また KO^tBu を塩基として, 9a と, methyl malonate, ethyl cyanoacetate, methyl acetoacetate 等の

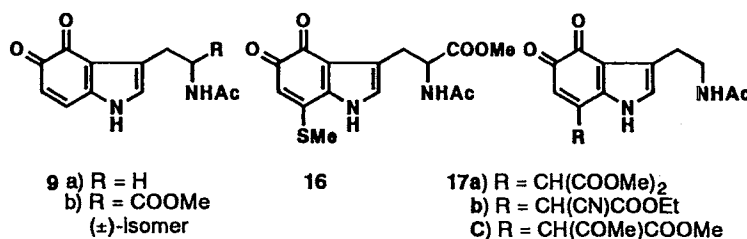


Figure 4

活性メチレン化合物を反応させると, 対応する 7 位置換 4,5-dione 体 (17a, b, c) が得られた (Figure 4)。

以上の結果は, serotonin が神経細胞内で酸化されて, 神経毒である tryptophan-4,5-dione 体が生成し, 不飽和脂肪酸等と Diels-Alder 反応を起こしたり, 各種生体内求核物質と置換反応を起こすことにより, 神経細胞を破壊し (或いは無毒化し), その結果として神経疾患を惹起する (或いは阻止する) という「1-hydroxyindole 仮説」の予想と合致している。

【文献】

- 1) Review : M. Somei, *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **49**, 205 (1991).
- 2) P. Cai, J. K. Snyder, J-C. Chen, R. Fine, and L. Volicer, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 969 (1990).

学位論文の審査結果の要旨

申請者は“1-hydroxyindole 仮説”を検証するために, 新規な 1-hydroxytryptophan 誘導体群の合成に成功し, さらにその反応性研究を行い, 下記の興味ある諸成果を達成している。

1. N₆-acetyl-1-hydroxytryptophan methyl ester, N₆-acetyl-1-hydroxytryptamine, および (3S, 6S)-(-)-(1-hydroxyindol-3-ylmethyl)-3-isobutyl-2,5-piperazinedione が, 1 位水酸基の脱離にとともに, indole の化学では稀な求核置換反応を起こして, pyrrolo[2,3-*b*]indole alkaloid の基本骨格を形成することを見い出し, またその構造を X 線結晶構造解析により確実に決定した。
2. 1-Hydroxytryptophan 誘導体は, 酸性条件下に indole 環上 5 位で位置選択的に求核攻撃を受けて, 水酸基, アルコキシ基, ハロゲンが 5 位へ導入された serotonin, melatonin, 5-halogenotryptophan 誘導体を生成することを見い出した。
3. 5-Hydroxytryptophan, 5-hydroxytryptamine 誘導体を酸化すると, tryptophan-4,5-dione 誘導体を高収率で生成することを見い出した。Tryptophan-4,5-dione 誘導体は反応性に富んでおり, 種々のジエンと Diels-Alder 反応を起こし, また各種の求核試薬とも容易に反応して, 新規な 7 位置換 tryptophan-4,5-dione 誘導体を高収率で生成することを見い出した。

本論文は, 仮説に基づいて, インドール化学における独創的な領域を開拓し, 多くの新事実の発見について論じたものであり, インドール化学の進展に寄与するところ大である。

論文審査委員会は, 口頭発表の結果をも踏まえて, 本論文が博士論文に相応しい内容を持つと認定した。